

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 463号	学位授与年月日	平成18年 3月15日
氏 名	村 上 祐 介		
論文題目	Exogenous vascular endothelial growth factor can induce preeclampsia-like symptoms in pregnant mice (妊娠マウスへの VEGF 投与は妊娠高血圧症候群様症状を惹起する)		

博士(医学) 村 上 裕 介

論文題目

Exogenous vascular endothelial growth factor can induce preeclampsia-like symptoms in pregnant mice

(妊娠マウスへのVEGF投与は妊娠高血圧症候群様症状を惹起する)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

妊娠高血圧症候群の発症頻度は全妊婦の7～10%を占め、産科領域において代表的な疾患の一つである。本症は高血圧を主体とし蛋白尿および全身の浮腫をきたす疾患であるが病因には未だ不明な点が多い。我々は蛋白リン酸化を抑制して細胞増殖を調整するCyclin Dependent Kinase Inhibitorの一つであるp57kip2がマウス胎仔、胎盤において欠損していると母体において妊娠高血圧症候群様症状を発症することを報告した。その胎盤内においてVEGF(vascular endothelial growth factor)の強発現を示すことを見出した。そこで我々はVEGFを野生型妊娠マウスに投与し、妊娠高血圧症候群様症状を惹起させ得るか否か、又VEGF投与に加え抗VEGF抗体を投与し妊娠高血圧症候群様症状を抑制できるか否か検討を行なった。

〔材料ならびに方法〕

ICRマウスを使用し、交尾後陰栓を認めた日を妊娠0.5日とした。妊娠5.5日目から16.5日目まで連日recombinant murine VEGF 10ngを尾静脈より投与(VEGF群)、対照として生理食塩水を用いた(コントロール群)。抗VEGF抗体は25 μ gを妊娠11.5日目と14.5日目に腹腔内投与した(抗VEGF群)。収縮期血圧はtail-cuff methodにて妊娠5.5日目、7.5日目、10.5日目、12.5日目、14.5日目、17.5日目に3回ずつ測定し平均値を使用した。妊娠17.5日目にエーテル麻酔下で心臓より採血しアンチトロンビン活性、トロンビン・アンチトロンビン複合体、血小板数を測定した。胎盤は4%パラフォルムアルデヒドにて固定後フィブリン免疫組織化学染色を施行した。統計学的解析はANOVA及びWelch's-t検定を用いp値0.05未満をもって有意差ありとした。

〔結果〕

(1) 血圧

妊娠5.5日目、17.5日目における収縮期血圧は、コントロール群(n=10)において102 \pm 7mmHg、101 \pm 7mmHgと妊娠期間を通して一定であった。VEGF群(n=6)においては103 \pm 6mmHg、127 \pm 9mmHgと妊娠後半期に上昇し、有意差を認めた(p<0.01)。妊娠14.5日目、17.5日目においては両群間に有意差を認めた(p<0.001)。抗VEGF群(n=4)においては妊娠5.5日目には108 \pm 2mmHg、妊娠17.5日目には115 \pm 6mmHgと若干の上昇を認めコントロール群に対し有意差を認めた(p<0.01)。

(2) 血液凝固検査

アンチトロンビン活性は、コントロール群が89 \pm 11%、抗VEGF群が83 \pm 5%、VEGF群が78 \pm 11%と若干低下したが、コントロール群と抗VEGF群に比べ有意差は認められなかった。トロンビン・アンチトロンビン複合体は、コントロール群は6.0 \pm 2.5 μ g/L、VEGF群が6.6 \pm 3.6 μ g/Lに対して、抗VEGF群が2.6 \pm 2.2 μ g/Lと低値を示したものの有意差は認めなかった。血小板数は、コントロール群113 \pm 21 \times 10⁴/

μl 、VEGF群 $112 \pm 21 \times 10^4/\mu\text{l}$ に対し抗VEGF群が $142 \pm 20 \times 10^4/\mu\text{l}$ と高値を示し、有意差を認めた ($p < 0.02$)。

(3) 病理学的所見は、VEGF群においてコントロール群と抗VEGF群に比較して著明なフィブリン沈着を認めた。

〔考察〕

VEGFは血管内皮細胞を特異的に増殖させ、血管透過性を亢進する因子として同定された。血管新生は胎盤形成にも密接に関与している。妊娠高血圧症候群患者の血中においてVEGFが増加していることが報告されている。この実験において妊娠マウスへのVEGF投与は血圧を妊娠12.5日目より上昇させその後高血圧を維持した。VEGF投与によってアンチトロンビン活性の低下したこと、胎盤内の著明なフィブリン沈着は胎盤内の過凝固の状態を示し胎盤循環を悪化させたと考えられる。更に抗VEGF抗体投与によって血圧上昇を抑制し、トロンビン・アンチトロンビン複合体を低下させる傾向を示し、胎盤内のフィブリン沈着を減少させ、血小板数を有意に増加させた。これらにより本妊娠マウスにおける妊娠高血圧症候群様症状はVEGF投与によるものと考えられる。過剰な外因性VEGFが胎盤内の過凝固を引き起こす機序は不明であるが、胎盤内の血栓が血圧上昇を誘発した可能性がある。

〔結論〕

妊娠マウスにおいて過剰なVEGF投与は妊娠高血圧症候群様症状を惹起し、そして抗VEGF抗体投与にてその症状を抑制した。これらよりVEGFは妊娠高血圧症候群の病因及び病態形成に重要であることが判明した。

論文審査の結果の要旨

妊娠高血圧症候群の発症頻度は全妊婦の7～10%を占め、産科領域において代表的な疾患の一つである。本症は高血圧を主体とし蛋白尿および全身の浮腫をきたす疾患であるが病因には未だ不明な点が多い。その病因の1つとして胎盤内過凝固があるが、その過凝固を引き起こす因子としてvascular endothelial growth factor (VEGF)の胎盤内過剰発現の関与が考えられている。そこで申請者は、VEGFを妊娠マウスに投与し、妊娠高血圧症候群様症状を惹起させ得るか否か、又VEGF投与に加え抗VEGF抗体を投与し妊娠高血圧症候群様症状を抑制できるか否かの検討を行なった。

ICRマウスを使用し、交尾後臍栓を認めた日を妊娠0.5日とした。妊娠5.5日目から16.5日目まで連日recombinant murine VEGF 10ngを尾静脈より投与した群(VEGF群、n=6)と、対照として生理食塩水を投与した群(コントロール群、n=10)を用いた。抗VEGF抗体は25 μg を妊娠11.5日目と14.5日目に腹腔内投与した(抗VEGF群、n=4)。収縮期血圧はtail-cuff methodにて妊娠5.5日目、7.5日目、10.5日目、12.5日目、14.5日目、17.5日目に3回ずつ測定し平均値を使用した。妊娠17.5日目にエーテル麻酔下に心臓より採血しアンチトロンビン活性、トロンビン・アンチトロンビン複合体、血小板数を測定した。胎盤は4%パラフォルムアルデヒドにて固定後フィブリン免疫組織化学染色を施行した。

コントロール群では、収縮期血圧は妊娠を通して変化がみられなかったが、VEGF投与により妊娠後半期(14.5日目および17.5日目)に有意な上昇を認めた。一方、抗VEGF抗体投与により妊娠14.5日目までは収縮期血圧の変化は認められなかったが、17.5日目では若干ではあるが有意な上昇が認められた。

アンチトロンビン活性は、VEGF投与により低下傾向が認められたが、トロンビン・アンチトロンビン複合体や血小板数においては変化はみられなかった。一方、抗VEGF抗体投与によりトロンビン・アンチトロンビン複合体は低下傾向を示し、血小板数は有意な増加を認めた。

病理学的所見では、VEGF投与により胎盤内にフィブリンの著明な沈着を認めたが、抗VEGF抗体投与によりフィブリン沈着が抑制された。

今回の研究により、過剰なVEGFが胎盤内の過凝固を引き起こし、マウスに妊娠高血圧症候群様の症状を生じさせる可能性を示した。

審査委員会は、妊娠高血圧症候群の病因の1つにVEGFの過剰産生の可能性を示唆する結果を得たことを高く評価した。

審査の過程において、審査委員会は次のような質問を行った。

- 1) 妊娠と血中VEGF濃度との関係について
- 2) VEGFの生理機能について
- 3) VEGFによるNO産生と高血圧との関係について
- 4) VEGFのisoformについて
- 5) 胎盤中VEGF濃度について
- 6) 実験系の群やVEGF投与量の設定根拠について
- 7) 投与経路について
- 8) VEGF投与後の血中濃度について
- 9) VEGFによる内皮障害のメカニズムについて
- 10) VEGFの腎への影響について

これらの質問の対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	梅 村 和 夫	
	副査	前 川 真 人	副査 飯 島 重 雄